第40卷 第4期
2023年4月

干 旱 区 研 究
ARID ZONE RESEARCH

Vol. 40 No. 4
Apr. 2023

天山乌鲁木齐河源1号冰川表层雪微生物多样性分析

张丽娟[1]，杜 瀚[1]，贠丰泽[1]，马应辉[2]，张新强[1]，
阿瓦古丽·图尔荪[1]，马正海[1]

(1. 新疆大学生命科学与技术学院，新疆生物资源基因工程重点实验室，新疆 乌鲁木齐 830046；
2. 中国科学院新疆天山冰川观测试验站，新疆 乌鲁木齐 830035)

摘 要：为探究天山乌鲁木齐河源1号冰川(简称"乌源1号冰川")积雪微生物群落特征及其与气候环境的关系，采集该区域2021年春季(4月)海拔3549 m处(TSX1)以及夏季(6月)海拔3770 m处(TSX2)和海拔3800 m处(TSX3)表层雪样，针对细菌16S rDNA V3-V4区、古菌16S rDNA V4-V5区和真菌ITS2区分别进行高通量测序，分析雪样中细菌、古菌和真菌的多样性。结果表明：(1)乌源1号冰川表层雪微生物多样性具有季节性差异，细菌多样性春季较高夏季较低，而真菌多样性则相反。(2)在物种组成上，细菌优势门为Proteobacteria(58.13%~89.10%)和Bacteroidetes(4.24%~40.74%)，优势属为*Flavobacterium*(2.32%~33.64%)和*Polaromonas*(0.01%~24.72%)；古菌优势门为Thaumarchaeota(38.10%~97.55%)，其次为Nanoarchaeaeota(0%~61.90%)和Euryarchaeota(0%~2.82%)；真菌优势门为Ascomycota(7.06%~88.43%)和Monoblepharidomycota(36.21%~40.78%)，优势属为*Aspergillus*(0.16%~81.04%)和*Rhodotorula*(0.02%~8.05%)。(3)网络互作分析表明，微生物网络互作以正相关连接为主(97.3%)，负相关连接仅占2.7%，互作关系趋于合作关系。(4)乌源1号冰川表层雪中具有丰富的微生物，微生物群落的季节变化反映了微生物对不同季节大气环流的响应。

关键词：乌鲁木齐河源1号冰川；天山；表层雪；微生物多样性；网络互作分析

冰川区冰雪微生物是地球化学及气候与环境变化的指示生物，其分布、丰度和多样性受冰川区气候和环境变化的影响[1-2]，其所含色素通过降低冰川表面反照率而加速冰川融化[3]，因此，冰川区冰雪微生物的多样性及其功能研究不仅在冰川学和生态学中具有重要的理论意义，同时也能反映气候和环境的变化，具有重要的现实意义。

微生物群落与气象因子和季节周期相关的动态变化的研究已有较多报道，刘勇勤等[4]对珠穆朗玛峰地区东绒布冰川冰雪微生物数量和菌群结构及其与季节变化的关系进行了研究，结果表明微生物的数量和菌群结构具有明显的季节特征，可能是受珠峰地区夏季和冬季不同水汽来源的影响所致；刘晓波等[5]研究了各拉丹冬果曲冰川雪中细菌的季节变化特征，结果显示夏季主要以α-Protobacteria和Actinobacteria为主，冬春季主要以Cytophaga-Flavobacterium-Bacterioides(CFB)为主，反映了细菌对不同季节大气环流的响应；王海伟[6]分析了天山1号冰川不同季节表层雪中细菌群落与气候环境因子的关系，结果显示春季和夏季(4—8月)细菌种类较少，秋冬季节(9月至次年2月)细菌种类较多，*Arthrobacter*和*Sphingomonas*两属普遍存在于不同季节。

雪系统具有季节性温度波动、强光照、紫外辐射和好氧等环境特征，乌源1号冰川雪层厚度随季节变化，冬季雪层厚度变化不大，夏季雪层厚度随温度升高而减小，通过沉降作用，积雪可以将大气中的不同物质及微生物与下层土壤或冰川冰的微环境联系起来，对冰川生态系统具有重要影响[7]。近年来，乌源1号冰川的气候随全球变暖向暖湿化

收稿日期：2022-04-24； **修订日期**：2023-02-09
基金项目：国家自然科学基金项目(41761096)
作者简介：张丽娟(1997-)，女，硕士研究生，主要从事微生物学研究. E-mail: lijuancheung@outlook.com
通讯作者：马正海. E-mail: 18999206068

发展,冰川退缩明显,积雪加速消融的同时由降雪和降水不断补给[8];每年4—6月季风期大量来自中亚干旱区陆地外源物质向乌源1号冰川输入[9],以上气候变化不仅会改变雪层中化学成分的原始记录,还会导致冰川融水的径流增加,进而影响冰川下游的生态系统[10-11]。与此同时,乌源1号冰川规模较小,距离城镇近,受周边人类活动的干扰较严重,如附近后峡镇工业排放的大量污染物以及周边城镇空气污染物可随大气环流进入冰川区上空。总之,乌源1号冰川的生态和环境受气候变化和人类活动的双重影响而变得极为脆弱,而冰川区积雪是研究冰川气候和环境变化的重要材料,其化学组分和微生物多样性受周围环境和局域微环境的影响较大[12],其中的微生物则是冰川区气候和环境变化最敏感的指示生物[13]。本研究于2021年4—6月采集乌源1号冰川表层雪,分析细菌、古菌和真菌的群落组成,探讨冰川表层雪微生物多样性和结构受气候和环境变化的影响。

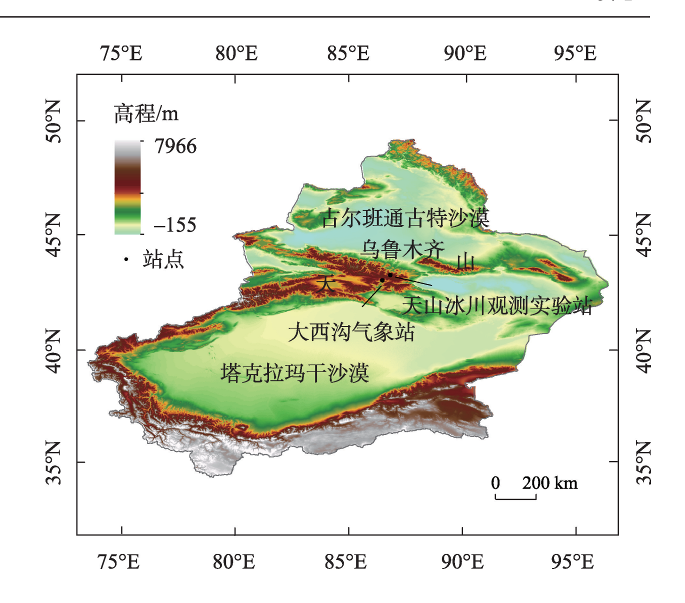
1　材料与方法

1.1　研究区概况

乌源1号冰川(43°06′N,86°49′E)位于亚洲大陆中部,地处天山中段喀拉乌成山北坡,由东、西两支冰川组成,呈东北走向,被沙漠和戈壁包围,冰川距城市较近(图1)。乌源1号冰川海拔4486 m,典型大陆性气候,主要受西风急流的影响,近地表局地的山谷风于每年3—9月盛行[14]。根据大西沟气象站(3593 m)观测数据显示,1959—2017年期间乌源1号冰川年均降水量460 mm,年均气温-4.6 ℃[15],主要降水期在5—9月,为夏季补给型冰川[16],期间由于消融加剧和融水下渗,会对下部雪层产生影响[17]。

1.2　样品的采样

表层雪样采集于乌源1号冰川背阳面处,分别采集了2021年4月4日海拔3549 m处雪样(TSX1)以及6月19日海拔3770 m处雪样(TSX2)和海拔3800 m处雪样(TSX3)。为避免人为污染,采样工具均经无菌处理,采样人员穿戴一次性无菌手套、口罩和超净服。设置3个取样点,样方为2 m × 2 m,取平行样3份,采样时为防止雪样污染和受强紫外照射,首先去除表面10 cm雪层,将10~30 cm深的雪样收集至5 L无菌的聚乙烯瓶。采集的雪样保存于



注:底图采用自然资源部标准地图制作,审图号为GS(2020)4632号,对底图边界无修改。

图1　研究区位置及采样点示意图

Fig. 1　Location of the study area and distribution of the sampling sites

-20 ℃车载冰箱中运回实验室,储存于-80 ℃冰箱备用。

1.3　雪样中细菌、古菌和真菌的收集

3份雪样于4 ℃暗环境下融化后,各取15 L雪样融水,分别经0.22 μm聚醚砜滤膜过滤收集微生物,滤膜储存于-80 ℃冰箱。以上滤膜置于干冰中进行高通量测序。

1.4　总DNA提取及PCR扩增

用ALFA-SEQ Advanced Water DNA Kit试剂盒(Thermo, USA)提取基因组DNA,琼脂糖凝胶电泳和Qubit 2.0荧光定量仪(Invitrogen™)对DNA的纯度和浓度进行定量。以雪样DNA为模板进行PCR扩增,分别用引物338F(ACTCCTACGGGAGGCAGCA)和806R(GGACTACHVGGGTWTCTAAT)[18]扩增细菌16S rDNA V3-V4区,用引物Arch519F(CAGCCGCCGCGGTAA)和Arch915R(GTGCTCCCCCGCCAATTCCT)[19]扩增古菌16S rDNA V4-V5区,用引物ITS3-F(GCATCGATGAAGAACGCAGC)和ITS4-R(TCCTCCGCTTATTGATATGC)[20]扩增真菌ITS2区,以上引物均带Barcode。PCR反应体系(50 μL)包括:DNA模板50 ng,正反向引物各1 μL,2 × Premix Taq 25 μL,补Nuclease-free water至50 μL。用无菌去离子水代替DNA模板用作PCR反应的阴性对照。PCR扩增条件为:94 ℃预变性5 min,94 ℃变

性30 s，52 ℃复性30 s，72 ℃延伸30 s，30个循环；72 ℃延伸10 min。1%琼脂糖凝胶电泳检测PCR产物的片段长度。使用GeneTools Analysis Software (V.4.03.05.0, SynGene)将细菌、古菌和真菌的PCR产物分别进行浓度对比后，按照等质量原则计算各样品所需体积，将各PCR产物进行混合。使用E.Z.N.A.®Gel Extraction Kit（Omega，USA）凝胶回收试剂盒回收PCR产物，TE缓冲液洗脱回收目标DNA片段。

1.5 文库构建和上机测序

按照NEBNext® Ultra™ II DNA Library Prep Kit for Illumina®（New England Biolabs, USA）标准流程进行建库操作。使用Illumina Nova 6000平台对构建的扩增子文库进行PE150测序。本研究获得的细菌、古菌和真菌的测序数据已提交至国家生物技术信息中心（National Center for Biotechnology Information, NCBI），可查看Bioproject accession PRJNA872833。

1.6 测序数据处理及分析

对获得的原始序列（raw reads）进行质控、去除引物、overlap小于16 bp且拼接错配大于5 bp的序列、低质量的raw tags和嵌合体，获得高质量的序列clean tags，使用UPARSE软件［以大于97%的相似性聚类生成操作分类单元（Operational Taxonomic Unit，OTU）］，用每个OTU的代表序列与数据库［SILVA（细菌、古菌）和Unite（真菌）］比对获得物种注释信息。基于OTU丰度表，使用Usearch（V.10.0.240）计算Chao1、Shannon和Simpson等α多样性指数以评价不同菌群种类的丰富度和多样性。运用R包'psych'中的Corr. Test函数计算样品相关性矩阵并执行检验不同菌群属水平物种间的Spearman相关性系数，得到相关性系数矩阵和P值矩阵，确定物种间存在相互作用的阈值（$|R| > 0.7$，$P \leq 0.05$），利用Gephi V.0.9.6软件进行网络互作图的构建。

2 结果与分析

2.1 雪样中微生物测序数据及稀释曲线

经高通量测序，雪样中细菌、古菌和真菌分别共计获得213849条、578条和110952条有效序列，OTU总数分别为804个、28个和1059个。各稀释度曲线见图1，细菌（图2a）、古菌（图2b）和真菌（图2c）的曲线均趋于平坦，说明测序获得了绝大多数样本信息，能够反映雪样中不同微生物的多样性。

2.2 雪样中细菌多样性分析

各雪样中细菌OTU在228~297个。Venn图显示（图2a），雪样中共有的细菌OTU数目为51个，占OTU总数的6.34%，3个雪样中特有的OTU数目分别为206个、44个和81个，以TSX1中特有OTU数目最多。α多样性指数（表1）显示，春季样品TSX1中细菌的多样性高于夏季样品TSX2和TSX3，而夏季高海拔样品TSX3中的细菌多样性又高于低海拔样品TSX2。

3份雪样共鉴定出19个菌门（图3a），TSX1、TSX2和TSX3分别鉴定出17个、10个和11个菌门。TSX1的优势菌为变形菌门（Proteobacteria，89.10%）和放线菌门（Actinobacteria，5.31%），TSX2和TSX3的优势菌均为变形菌门（Proteobacteria，58.13%和63.65%）和拟杆菌门（Bacteroidetes，40.74%和35.31%）。

在纲分类阶元共鉴定出45个菌纲，TSX1、TSX2和TSX3分别鉴定出40个、16个和17个菌纲，相对丰度前13的菌纲如图3b所示。在优势菌纲中，3份雪样的γ变形菌纲（Gammaproteobacteria）相对丰度在32.47%~61.17%之间，TSX1中α变形菌纲（Alphaproteobacteria）和放线菌纲（Actinobacteria）的相对丰度分别为56.56%和5.15%，TSX2和TSX3中的拟杆菌纲（Bacteroidia）、δ变形菌纲（Deltaproteobacteria）的相对丰度分别为35.31%和40.74%、0.96%和1.72%。

在属分类阶元共鉴定出152个菌属，TSX1、TSX2和TSX3分别鉴定出111个、72个和79个菌属，TSX1的细菌种类明显多于TSX2和TSX3。相对丰度前14的菌属如图3c所示，3份雪样的优势菌属存在差异，TSX1的优势菌属包括短波单胞菌属（*Brevundimonas*，12.44%）、寡养单胞菌属（*Stenotrophomonas*，11.90%）、鞘脂单胞菌属（*Sphingomonas*，9.95%）、甲基杆菌属（*Methylobacterium*，8.64%）和青枯菌属（*Ralstonia*，6.99%），TSX2和TSX3的优势菌属包括黄杆菌属（*Flavobacterium*，26.01%和33.64%）、极地单胞菌属（*Polaromonas*，21.36%和24.72%）、红育菌属（*Rhodoferax*，7.34%和11.50%）和马赛菌属（*Massilia*，7.62%和11.75%）。相对丰度不低于1%的菌属还包括主要存在于TSX1中的异样根

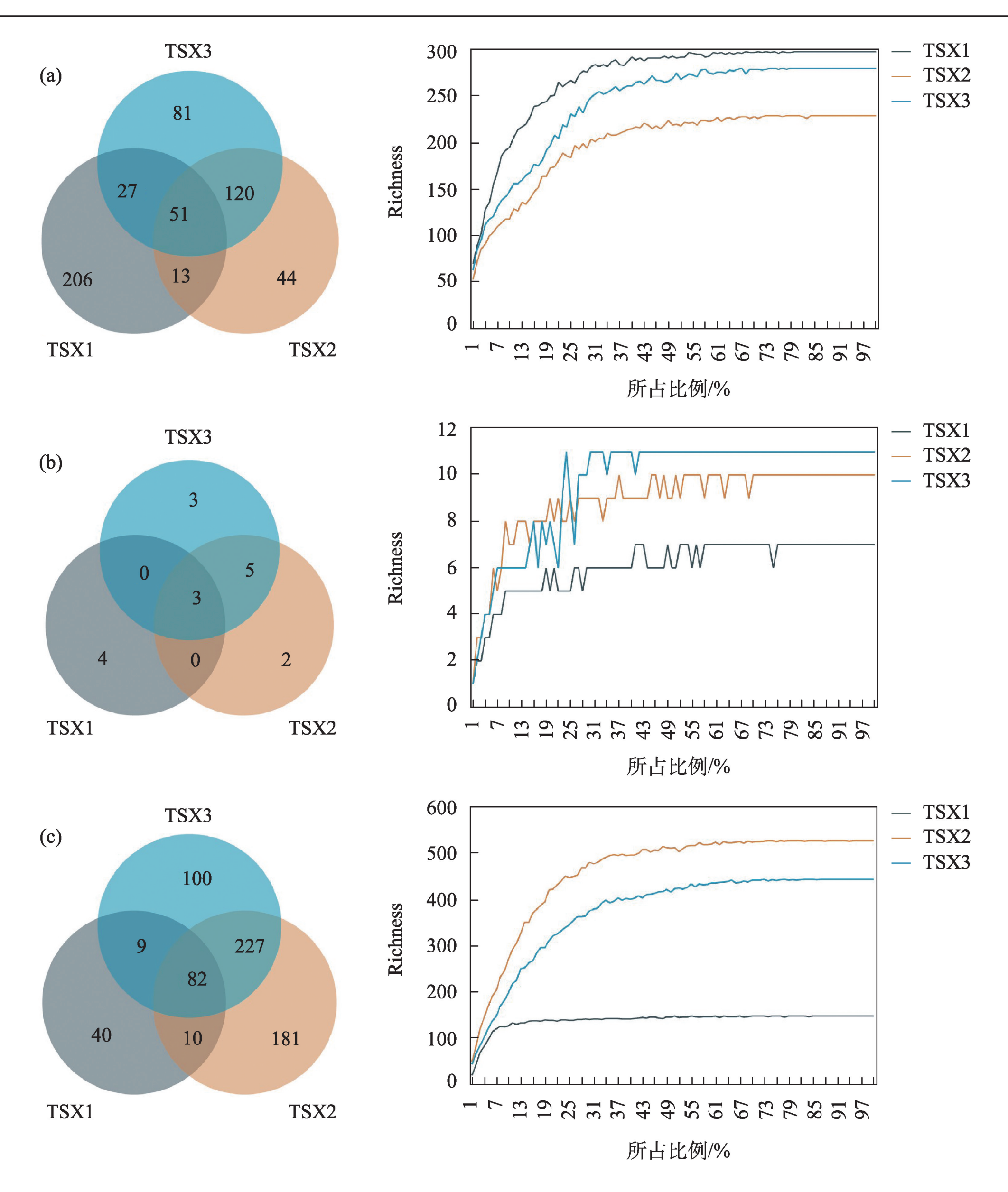


图2　雪样中细菌(a)、古菌(b)和真菌(c)的OTU韦恩图和Richness稀释曲线

Fig. 2　OTU Venn and Richness rarefaction curves of bacteria (a), archaea (b) and fungi (c) in the snow samples

表1　雪样细菌、古菌和真菌的α多样性指数

Tab. 1　Alpha diversity indexes of the bacterial, archaea and fungi community in the snow samples

样品名称	细菌			古菌			真菌		
	Chao1	Shannon	Simpson	Chao1	Shannon	Simpson	Chao1	Shannon	Simpson
TSX1	297.1	3.48	0.05	7.5	1.31	0.36	148.1	1.14	0.38
TSX2	228.1	2.95	0.09	10.5	1.47	0.34	526.1	2.75	0.18
TSX3	279.0	3.06	0.08	11	1.44	0.39	443.1	2.33	0.23

注：TSX1为春季海拔3549 m处雪样；TSX2为夏季海拔3770 m处雪样；TSX3为夏季海拔3800 m处雪样。

瘤菌属(*Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium*)和(*Ralstonia*)以及主要存在于TSX3中的*Arcicella*、*Herminiimonas*、假单胞菌属(*Pseudomonas*)和土地杆菌属(*Pedobacter*)，其他未分类的菌属占4.85%~26.73%。

2.3　雪样中古菌多样性的分析

各雪样OTU在7~11个之间。Venn图显示(图2b)，雪样中共有的古菌OTU数目为3个，占OTU总

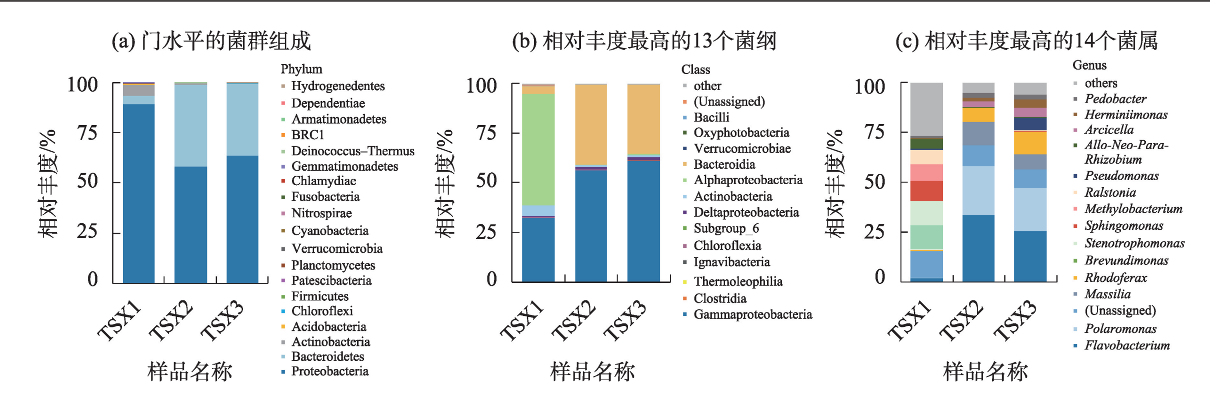


图3 雪样细菌群落组成

Fig. 3 The bacteria community in the snow samples

数的10.71%,3个雪样中特有的OTU数目分别为4个、2个和3个,以TSX1中特有OTU数目最多。雪样古菌的α多样性指数(表1)显示,夏季样品TSX2和TSX3中古菌的多样性高于春季样品TSX1,而夏季低海拔样品TSX2中的古菌多样性又高于高海拔样品TSX3。

3份雪样鉴定出的古菌分属3个门(图4a)、4个纲(图4b)和4个属(图4c)。奇古菌门(Thaumarchaeota)在3份雪样中的相对丰度分别为38.10%、97.18%和97.55%;纳古菌门(Nanoarchaeaeota)仅存在于TSX1中,相对丰度为61.90%;广古菌门(Euryarchaeota)存在于TSX2和TSX3中,相对丰度分别为2.45%和2.88%。纲分类阶元,Nitrososphaeria纲存在于3份雪样中,相对丰度在38.10%~97.55%,Woesearchaeia纲仅存在于TSX1中,占61.90%。属分类阶元,奇古菌门的*Candidatus Nitrososphaera*属存在于3份雪样中,相对丰度在0.79%~4.41%之间;*Candidatus Nitrosoarchaeum*属仅存在于TSX1中,相对丰度为23.02%,盐杆菌纲的*Halomarina*属仅存在于TSX2中,相对丰度为1.61%,甲烷杆菌纲的甲烷短杆菌属(*Methanobrevibacter*)仅存在于TSX3中,相对丰度为0.98%;雪样中属水平上未确定分类地位的古菌占比较高,在76.19%~95.56%之间。

2.4 雪样中真菌多样性的分析

各雪样OTU在103~334个之间。Venn图显示(图2c),雪样中共有的真菌OTU数目为82个,占OTU总数的10.70%,3个雪样中特有的OTU数目分别为45个、171个和91个,以TSX2中特有OTU数目最多。雪样真菌α多样性指数(表1)显示,夏季样品TSX2和TSX3中真菌的多样性高于春季样品TSX1。

3份雪样各鉴定出4个菌门,共计5个菌门(图5a)。其中子囊菌门(Ascomycota)为TSX1的优势菌门,相对丰度为88.43%,其在TSX2和TSX3中的相对丰度分别为10.10%和7.06%;单毛壶菌门(Monoblepharidomycota)为TSX2和TSX3的优势菌门,相对丰度分别为36.21%和40.78%,TSX1中未发现该菌;担子菌门(Basidiomycota)和壶菌门(Chytridiomyco-

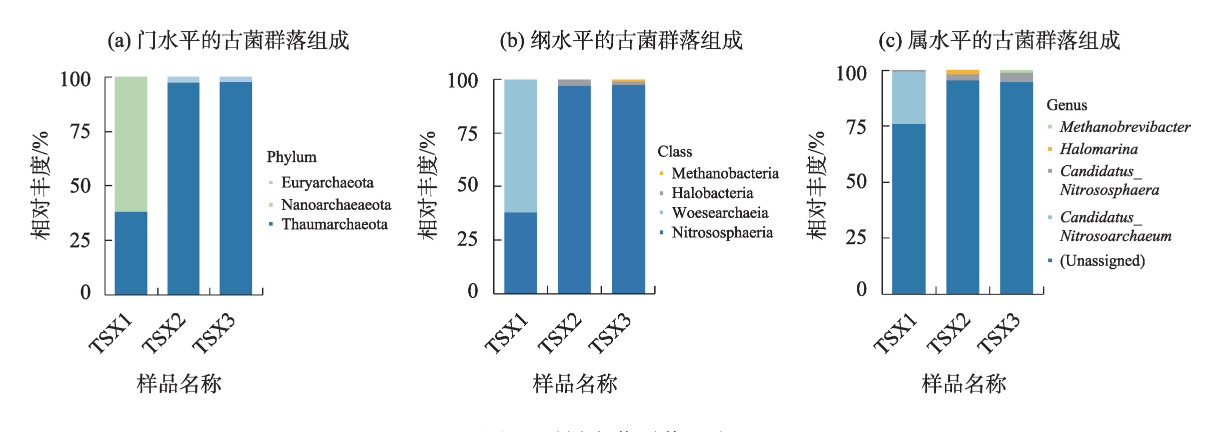


图4 雪样古菌群落组成

Fig. 4 The archaea community in the snow samples

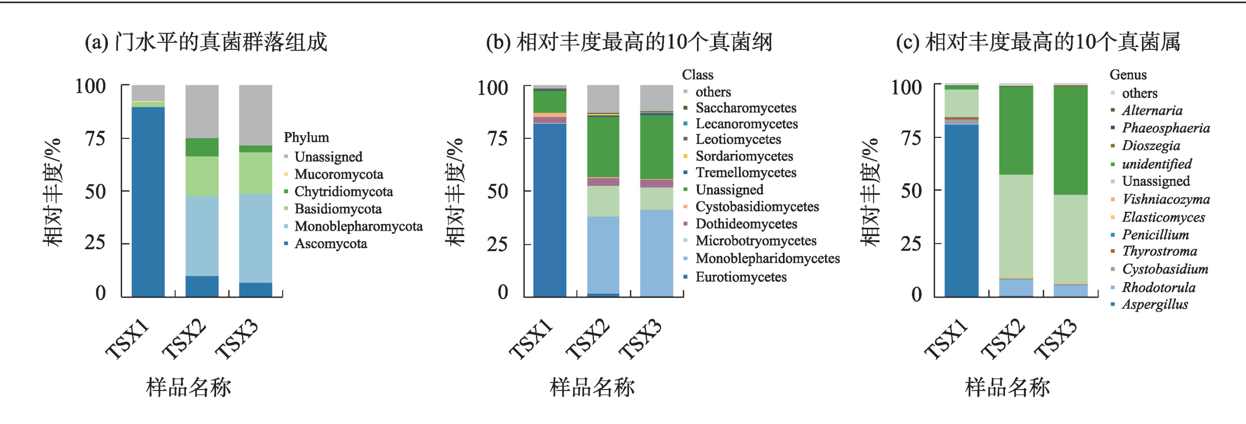


图5 雪样真菌群落组成

Fig. 5 The fungi community in the snow samples

ta)在3份雪样中均有分布,在TSX2和TSX3中的相对丰度较高;腐生性真菌毛霉门(Mucoromycota)仅存在于TSX1中,相对丰度为0.09%。

在纲分类阶元共鉴定出19个菌纲,TSX1、TSX2和TSX3分别鉴定出12个、18个和15个菌纲,相对丰度前10的菌纲如图5b所示。座囊菌纲(Dothideomycetes)在3份雪样中的相对丰度均较高(2.67%~3.88%);散囊菌纲(Eurotiomycetes)和Cystobasidiomycetes纲在TSX1中的相对丰度分别为82.11%和2.20%;单毛壶菌纲(Monoblepharidomycetes)、微球黑粉菌纲(Microbotryomycetes)在TSX2和TSX3中的相对丰度分别为36.21%和4.78%、10.62%和14.97%;相对丰度不低于1%的菌属的菌纲还有TSX3中担子菌门的银耳菌纲(Tremellomycetes)。

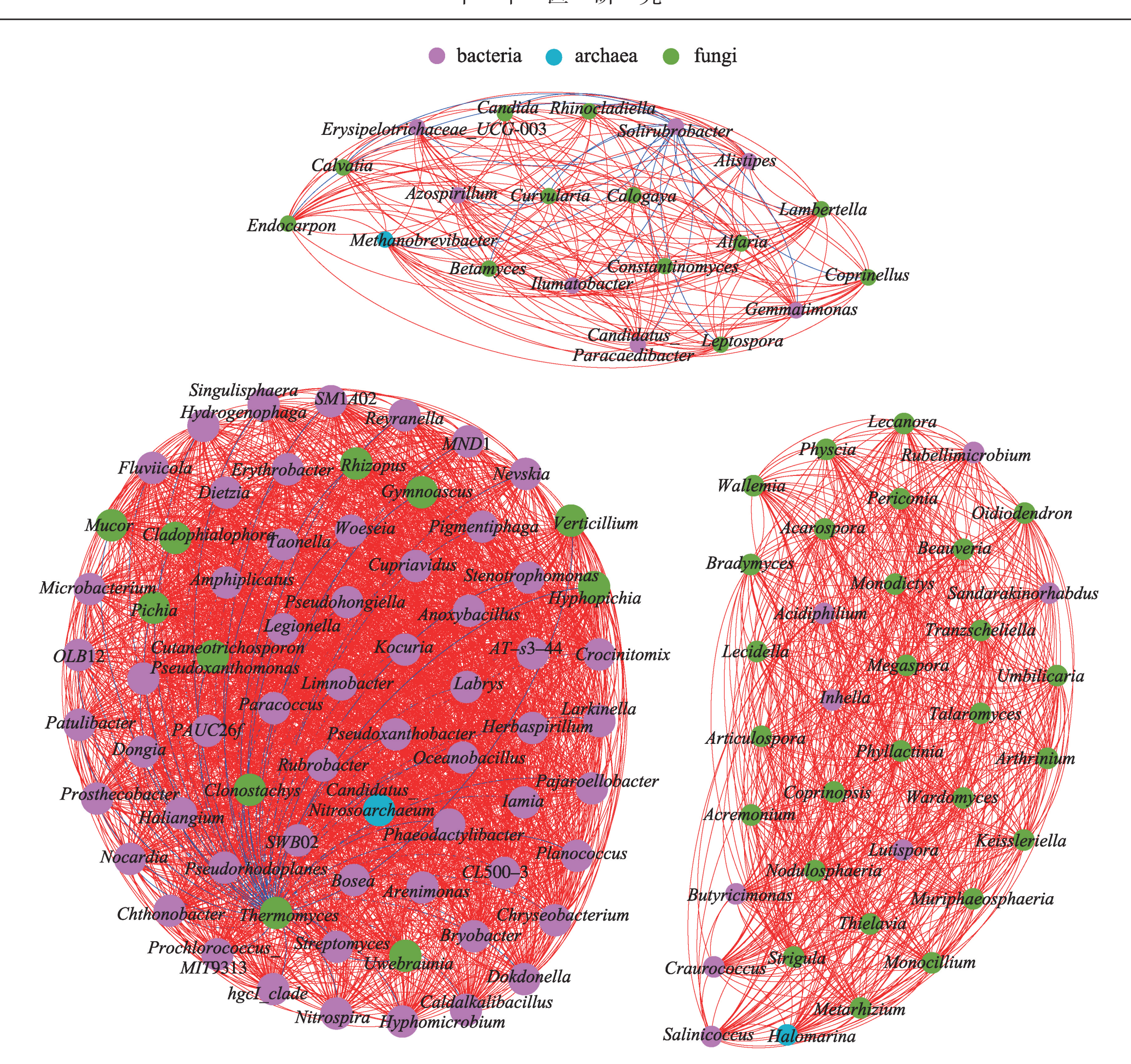
在属分类阶元共鉴定出54个菌属,TSX1、TSX2和TSX3分别鉴定出20个、50个和52个菌属,相对丰度前10的菌属如图5c所示。曲霉属(*Aspergillus*)在TSX1中的相对丰度为81.04%;红酵母属(*Rhodotorula*)在TSX2和TSX3中的相对丰度分别为6.12%和7.93%;相对丰度不低于1%的菌属还包括TSX1中的囊担菌属(*Cystobasidium*)。TSX2和TSX3中未分类菌属占比较高,分别占47.56%和41.08%。

2.5 雪样微生物共现网络

基于Spearman在属水平上的相关性构建了3个表层雪样细菌、古菌和真菌的互作网络(图6),结果显示,乌源1号冰川表层雪样微生物互作关系主要为细菌-细菌、细菌-真菌以及真菌-真菌的相互作用。根据Spearman相关系数,得到3个相互独立的网络互作,其中以细菌-细菌为主的网络互作节点数和边数最多,表明细菌之间的生态网络更加复杂,物种联系更加紧密。3个网络互作以正相关连接为主,占97.3%,负相关连接占2.7%,表明乌源1号冰川表层雪细菌、古菌和真菌间趋于协作关系而非竞争关系。

3 讨论

本研究α多样性结果表明,乌源1号冰川表层雪微生物多样性在春夏两季存在明显差异。就细菌而言,TSX1的Chao1和Shannon指数较高,而其Simpson指数显著低于另两份雪样,说明TSX1中细菌的多样性和丰富度均较高,研究中从TSX1鉴定的细菌种类也明显多于另两份雪样;而TSX2和TSX3的菌群种类较少且丰富度分布不均匀,优势菌的生态优势度极高,该两份样品中变形菌门和拟杆菌门丰度之和均接近99%,占绝对优势。就真菌而言,TSX2、TSX3的Chao1和Shannon指数明显高于TSX1,而Simpson指数明显低于TSX1,表明TSX2和TSX3的真菌多样性更高,其中鉴定的真菌种类也明显多于TSX1。以上结果表明,乌源1号冰川表层雪中细菌多样性春季较高夏季较低,而真菌多样性春季较低夏季较高。有学者报道珠穆朗玛峰东绒布冰川表层雪微生物多样性随季节变化而变化,并发现细菌的多样性与温度呈负相关[21],这与本文的研究结果一致,其可能与冰川区特定耐冷细菌群落的生长特性有关。另外,受西风急流和沙尘的影响,春季大量细菌可由大气和沙尘携带输入乌源1号冰川区并落入表层雪中,也是细菌多样性增加的因素之一。夏季雪样中真菌多样性较高,主要与夏季气温升高和光照延长等因素更适于真菌生长有关[22]。古



注：一个联系代表Spearman相关（|R|＞0.7，P≤ 0.05）。每一个节点代表菌属，节点的颜色代表细菌（紫色）、古菌（蓝色）和真菌（绿色）分类，连接线代表它们之间的相互作用，红色线表示正显著相关，蓝色线表示负显著相关。

图6 属分类水平下表面雪样中细菌、古菌和真菌的相关性网络分析

Fig. 6 Correlation network analysis of bacteria, archaea and fungi of the surface snow base on genus level

菌的多样性变化与真菌一致，夏季较高春季较低的原因可能是门水平和属水平相对丰度最高的古菌均来自奇古菌门，且为氨氧化古菌（Ammonia-oxidizing archaea，AOA），温度低时AOA生物酶催化新陈代谢的速率减慢[23]，导致丰度降低[24]，春季相较于夏季气温偏低，不利于古菌的生长繁殖。

乌源1号冰川雪样的优势菌包括变形菌门、拟杆菌门和放线菌门，变形菌门中γ变形菌纲为主要优势菌，α变形菌纲和δ变形菌纲为次要优势菌。这些细菌在其他冰川亦有较高的相对丰度，如放线菌门、变形菌门和拟杆菌门为珠峰北坡表层雪和冰芯中的优势菌[25]，α、δ、γ变形菌纲以及放线菌门在Svalbard冰川[26]和天山奎屯哈希勒根51号冰川[27]雪样中的相对丰度均较高。在属分类阶元上，短波单胞菌属、寡养单胞菌属、鞘脂单胞菌属、甲基杆菌属、青枯菌属、黄杆菌属、极地单胞菌属、红育菌属和马赛菌属在雪样中的相对丰度较高，其中短波单胞菌属、黄杆菌属和鞘脂单胞菌属等为乌源1号冰川积雪中的优势菌群已见报道[28]，表明这些菌属在乌源1号冰川在空间上广泛分布且相对丰度较为稳定。另外，本研究结果显示，春季与夏季优势菌属存在差异，推测可能是由于春、夏两季乌源1号冰川冰雪微生物受气候影响不同，冰雪微生物春季主要受沙尘来源的影响，夏季受降水及气温升高冰雪消融的影响，本研究海拔高度虽相差不大，但亦有可能造成不同样本间优势菌属的差异。

从乌源1号冰川雪样中注释到的古菌包括奇古菌门、纳古菌门和广古菌门。奇古菌门为典型的氨氧化古菌,是重要的硝化菌,最早分离于深海极端环境[29],其在3份雪样中的相对丰度均较高,研究中注释到奇古菌门 *Candidatus Nitrososphaera* 属在陆地生境氮循环中发挥着重要作用[30],故雪样中高丰度的奇古菌门可参与冰川环境的氮循环。广古菌门中鉴定到盐杆菌纲和甲烷杆菌纲,据报道这2个菌纲在冰川中参与甲烷的生产以及厌氧甲烷的氧化,在地球化学物质循环中具有重要意义[31-32]。纳古菌门仅在TSX1中注释到一个纲,其功能方面的报道较少。

本研究从雪样中鉴定出5个真菌门,其中子囊菌门和单毛壶菌门的相对丰度较高,春季雪样TSX1中真菌群落组成及其丰度与两份夏季雪样存在差异。据报道子囊菌门在格陵兰冰芯[33]和Rotmoosferner冰川[34]中均为优势真菌,其普遍存在于各类冰川中,在与植物互作[35]和土壤演替成熟[36]中发挥作用,如子囊菌门的茶渍菌纲(0.08%~0.27%)在本次采集雪样中的相对丰度较高,据报道其与地衣的形成相关[37]。单毛壶菌门在土壤环境和植物中常被报道[38],但相对丰度均较低,且具体的生态功能未知,在南极苔藓中注释到少量单毛壶菌门[39],其是否可以在冰川中影响植物的生长还有待进一步研究。雪样中的优势真菌属为曲霉菌属和红酵母属。曲霉菌属耐低温[40],具有在低温条件下降解碳氢化合物的潜力[41],其在1号冰川底部沉积层中相对丰度较高[42]。红酵母属是冷环境中的重要酵母[43],能产多种低温酶,可承受极端气候[44],降解木质素和纤维素的能力较细菌更强[45],在冰川的碳素循环中有重要作用。

微生物相关性网络分析结果表明,乌源1号冰川微生物类群共现性网络中大部分节点的菌属为互利共生类型的互作关系,微生物之间的相互作用主要是受到养分的驱动,表明微生物在冰川恶劣的生态环境下,各微生物之间更趋向于合作关系,更有利于其在冰川中的生存。同时,细菌在雪样微生物群落中所占比例较大,群落结构较稳定,其通过与真菌和古菌直接或间接的相互作用可促进微生物群落的恢复。

本研究从乌源1号冰川表层雪中注释到大量冷适应微生物。注释到的冷适应细菌包括变形菌门的马赛菌属(0.03%~11.75%)和极性单胞菌属(0.01%~24.72%),放线菌门的冷杆菌属(*Cryobacterium*)(0.01%~0.63%)、节细菌属(*Arthrobacter*)(0%~0.01%)和红球菌属(*Rhodococcus*)(0%~0.10%),拟杆菌门的黄杆菌属(2.32%~33.64%)和薄层杆菌属(*Hymenobacter*)(0.01%~1.10%)以及厚壁菌门中的芽孢杆菌属(*Bacillus*)(0%~0.01%)和类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)(0%~0.01%),以上菌属存在于多种寒冷环境中[46-48]。注释到的冷适应真菌包括担子菌门的隐球酵母属(*Cryptococcus*)(0%~0.16%)、*Dioszegia*(0.08%~0.21%)、红酵母属(0.02%~8.02%)、掷孢酵母属(*Sporobolomyces*)(0%~0.02%)、*Vishniacozyma*(0%~0.33%)、*Cystobasidium*(0.01%~2.23%),子囊菌门的青霉菌属(0.07%~0.80%)和链格孢属(0.01%~0.14%),以上真菌在乌源1号冰川冻土[49]和格陵兰岛冰川[50]中亦有分布。高山冰川是适冷微生物的主要栖息地,其在营养循环和有机物质矿化方面发挥着重要的作用[51],并在适应冰川环境的过程中进化产生多种耐冷策略和生物特性[52],在环境、农业和工业等方面具有巨大的应用潜力。

4 结 论

乌源1号冰川表层雪中细菌和真菌的多样性受季节变化影响,细菌多样性春季高夏季低,春季变形菌门占优势,夏季拟杆菌门占优势;真菌多样性夏季高春季低,夏季单毛壶菌门占优势,春季子囊菌门占优势。春夏两季均鉴定到奇古菌门、广古菌门和纳古菌门等古菌。乌源1号冰川表层雪中微生物多样性较高,雪样中微生物群落春季受沙尘影响,夏季受消融影响,其季节变化反映了微生物对不同季节大气环流和气候变化的响应。乌源1号冰川表层雪中微生物类群共现性网络的互作关系主要为互利共生类型,表明在恶劣的冰川环境中合作关系更有利于微生物生存。

参考文献(References):

[1] Liu Y, Yao T, Kang S, et al. Seasonal variation of snow microbial community structure in the East Rongbuk glacier, Mt. Everest[J]. Chinese Science Bulletin, 2006, 51(12): 1476-1486.

[2] 马晓军, 刘炜, 侯书贵, 等. 不同类型冰川雪中可培养细菌多样性变化及其与环境因子关系研究[J]. 冰川冻土, 2009, 31(3): 483-489. [Ma Xiaojun, Liu Wei, Hou Shugui, et al. Culturable

bacteria in snow pits of different type glaciers: Diversity and relationship with environment[J]. Journal of Glaciology and Geocryology, 2009, 31(3): 483–489.]

[3] Lutz S, Anesio A M, Raiswell R, et al. The biogeography of red snow microbiomes and their role in melting arctic glaciers[J]. Nature Communications, 2016, 7(1): 11968.

[4] 刘勇勤, 姚檀栋, 康世昌, 等. 珠穆朗玛峰地区东绒布冰川冰雪微生物群落及其季节变化[J]. 科学通报, 2006, 51(11): 1287–1296. [Liu Yongqin, Yao Tandong, Kang Shichang, et al. Characteristics of bacterial community in main habitats above 6000 m on the north slope of Mount Everest[J]. Chinese Science Bulletin, 2006, 51(11): 1287–1296.]

[5] 刘晓波, 康世昌, 姚檀栋, 等. 各拉丹冬峰果曲冰川雪中细菌的季节变化特征[J]. 冰川冻土, 2009, 31(4): 634–641. [Liu Xiaobo, Kang Shichang, Yao Tandong, et al. The seasonal change of bacterial abundance and diversity in snow of the Guoqu Glacier, Mt. Geladaindong[J]. Journal of Glaciology and Geocryology, 2009, 31(4): 634–641.]

[6] 王海伟. 天山1号冰川表面雪中细菌群落的季节性变化研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2007. [Wang Haiwei. Seasonal Changes of Bacterial Flora in Surface Snow from Urumqi Glacier No.1 in the Tianshan Mountains, China[D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2007.]

[7] Smirnova M, Miamin U, Kohler A, et al. Isolation and characterization of fast-growing green snow bacteria from coastal East Antarctica[J]. Microbiologyopen, 2021, 10(1): e1152.

[8] 苗运玲, 于永波, 霍达, 等. 中天山北坡冬季降雪变化及其影响因子分析[J]. 干旱区研究, 2023, 40(1): 9–18. [Miao Yunling, Yu Yongbo, Huo Da, et al. Analysis of winter snowfall variability and its influencing factors on the north slopes of the middle Tianshan Mountains[J]. Arid Zone Research, 2023, 40(1): 9–18.]

[9] Luo B, Sun H, Zhang Y, et al. Habitat-specificity and diversity of culturable cold-adapted yeasts of a cold-based glacier in the Tianshan Mountains, northwestern China[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2019, 103(5): 2311–2327.

[10] 刘雨薇, 田伊林, 张振兴, 等. 冰川及雪线后退对河流水生生物影响的研究进展[J]. 生态科学, 2019, 38(6): 199–207. [Liu Yuwei, Tian Yilin, Zhang Zhenxing, et al. Research progress on the effect of retreating glaciers and snow lines on river hydrobiology[J]. Ecological Science, 2019, 38(6): 199–207.]

[11] Xuemei L, Pei G, Qian L, et al. Muti-paths impact from climate change on snow cover in Tianshan Mountainous area of China[J]. Advances in Climate Change Research, 2016, 12(4): 303–312.

[12] 张坤, 李忠勤, 王飞腾, 等. 天山乌鲁木齐河源1号冰川积累区气溶胶和表层雪中可溶性矿物粉尘的变化特征及相互关系——以 Ca^{2+}、Mg^{2+} 为例[J]. 冰川冻土, 2008, 30(1): 113–118. [Zhang Kun, Li Zhongqin, Wang Feiteng, et al. Soluble mineral dusts in aerosol and surface snow on the Glacier No.1 at the headwaters of Urumqi River, East Tianshan Mountains: Characteristics and their interrelation-taking calcium and magnesium as examples [J]. Journal of Glaciology and Geocryology, 2008, 30(1): 113–118.]

[13] 陶玲, 顾燕玲, 郑晓吉, 等. 天山乌鲁木齐河源1号冰川融水可培养细菌生理生化特性及其系统发育[J]. 冰川冻土, 2015, 37(2): 511–521. [Tao Lin, Gu Yanlin, Zheng Xiaoji, et al. Cultivable bacteria isolated from the meltwater of the Glacier No.1 at headwater of the Urumqi River in Tianshan Mountains: Physiological-biochemical characteristics and phylogeny[J]. Journal of Glaciology and Geocryology, 2015, 37(2): 511–521.]

[14] 张寅生, 康尔泗, 刘潮海, 等. 天山乌鲁木齐河流域山区气候特征分析[J]. 冰川冻土, 1994, 16(4): 333–341. [Zhang Yinsheng, Kang Ersi, Liu Chaohai, et al. The climatic features of Tianshan Urumqi River Valley[J]. Journal of Glaciology and Geocryology, 1994, 16(4): 333–341.]

[15] 李宏亮, 王璞玉, 李忠勤, 等. 天山乌鲁木齐河源1号冰川东支能量-物质平衡模拟研究[J]. 冰川冻土, 2021, 43(1): 24–35. [Li Hongliang, Wang Puyu, Li Zhongqin, et al. Study on the energy-mass balance simulation of the east branch of the Urumgi Glacier No.1, Tianshan Mountains[J]. Journal of Glaciology and Geocryology, 2021, 43(1): 24–35.]

[16] 曹丽君, 孙慧兰, 兰小丽, 等. 新疆天山极端干湿事件时空演变特征[J]. 干旱区研究, 2021, 38(1): 188–197. [Cao Lijun, Sun Huilan, Lan Xiaoli, et al. Spatio-temporal evolution of the extreme dry and wet events in Tianshan Mountains, Xinjiang, China [J]. Arid Zone Research, 2021, 38(1): 188–197.]

[17] Li Z, Edwards R, Mosley-Thompson E, et al. Seasonal variability of ionic concentrations in surface snow and elution processes in snow-firn packs at the PGPI site on Ürümqi glacier No. 1, eastern Tien Shan, China[J]. Annals of Glaciology, 2006, 43(1): 250–256.

[18] Zeng Q, An S. Identifying the biogeographic patterns of rare and abundant bacterial communities using different primer sets on the Loess Plateau[J]. Microorganisms, 2021, 9(1): 139.

[19] Wei S, Cui H, Zhang Y, et al. Comparative evaluation of three archaeal primer pairs for exploring archaeal communities in deep-sea sediments and permafrost soils[J]. Extremophiles, 2019, 23(6): 747–757.

[20] Op De Beeck M, Lievens B, Busschaert P, et al. Comparison and validation of some ITS primer pairs useful for fungal metabarcoding studies[J]. PLoS One, 2014, 9(6): e97629.

[21] Liu Y, Yao T, Kang S, et al. Seasonal variation of snow microbial community structure in the East Rongbuk glacier, Mt. Everest[J]. Chinese Science Bulletin, 2006, 51(12): 1476–1486.

[22] Ruisi S, Barreca D, Selbmann L, et al. Fungi in Antarctica J]. Reviews in Environmental Science & Bio/technology, 2007, 6(1–3): 127–141.

[23] 向燕, 李建光, 关梅, 等. 好氧氨氧化微生物生态学研究进展[J]. 贵州农业科学, 2012, 40(9): 115–120. [Xiang Yan, Li Jianguang, Guan Mei, et al. Advances in microbial ecology of aerobic ammonia- oxidizing microorganisms[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2012, 40(9): 115–120.]

[24] Urakawa H, Tajima Y, Numata Y, et al. Low temperature decreases the phylogenetic diversity of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in aquarium biofiltration systems[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2008, 74(3): 894-900.

[25] 刘勇勤, 姚檀栋, 康世昌, 等. 珠穆朗玛峰北坡6000 m以上主要生境细菌群落特征[J]. 科学通报, 2007, 52(13): 1542-1547. [Liu Yongqin, Yao Tandong, Kang Shichang, et al. Characteristics of bacterial community in main habitats above 6000 m on the north slope of Mount Everest[J]. Chinese Science Bulletin, 2007, 52(13): 1542-1547.]

[26] Hell K, Edwards A, Zarsky J, et al. The dynamic bacterial communities of a melting high Arctic glacier snowpack[J]. The ISME Journal, 2013, 7(9): 1814-1826.

[27] Xiang S R, Shang T C, Chen Y, et al. Dominant bacteria and biomass in the Kuytun 51 Glacier[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(22): 7287-7290.

[28] Zhang W, Zhang G, Liu G, et al. Diversity of bacterial communities in the snowcover at Tianshan Number 1 Glacier and its relation to climate and environment[J]. Geomicrobiology Journal, 2012, 29(5): 459-469.

[29] Pester M, Schleper C, Wagner M. The Thaumarchaeota: An emerging view of their phylogeny and ecophysiology[J]. Current Opinion in Microbiology, 2011, 14(3): 300-306.

[30] Pitcher A, Rychlik N, Hopmans E C, et al. Crenarchaeol dominates the membrane lipids of Candidatus *Nitrososphaera gargensis*, a thermophilic Group I.1b Archaeon[J]. The ISME Journal, 2010, 4(4): 542-552.

[31] Tung H C, Bramall N E, Price P B. Microbial origin of excess methane in glacial ice and implications for life on Mars[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005, 102(51): 18292-18296.

[32] Skidmore M L, Foght J M, Sharp M J, et al. Microbial life beneath a high arctic glacier[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(8): 3214-3220.

[33] Ma L J, Rogers S O, Catranis C M, et al. Detection and characterization of ancient fungi entrapped in glacial ice[J]. Mycologia, 2000, 92(2): 286-295.

[34] Dresch P, Falbesoner J, Ennemoser C, et al. Emerging from the ice-fungal communities are diverse and dynamic in earliest soil developmental stages of a receding glacier[J]. Environmental Microbiology, 2019, 21(5): 1864-1880.

[35] Fiołka M J, Takeuchi N, Sofińska-Chmiel W, et al. Morphological and spectroscopic analysis of snow and glacier algae and their parasitic fungi on different glaciers of Svalbard [J]. Scientific Reports, 2021, 11(1): 1-18.

[36] Oliver M, Ursula P. Ectomycorrhiza of Kobresia myosuroides at a primary successional glacier forefront [J]. Mycorrhiza, 2008, 18(6-7): 355-362.

[37] Jolanta M, Frank K, Valérie H, et al. New insights into classification and evolution of the Lecanoromycetes (Pezizomycotina, Ascomycota) from phylogenetic analyses of three ribosomal RNA-and two protein-coding genes[J]. Mycologia, 2006, 98(6): 1088-1103.

[38] 赵庆庆, 解金昆, 高永超, 等. 不同水文条件下黄河口滨海湿地土壤真菌群落的分布特征[J]. 环境科学学报, 2022, 42(1): 95-103. [Zhao Qingqing, Xie Jinkun, Gao Yongchao, et al. The distribution pattern of soil fungal community in coastal wetlands with different hydrologic conditions in the Yellow River Estuary[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2022, 42(1): 95-103.]

[39] Rosa L H, Pinto O, Coelho L C, et al. Ecological succession of fungal and bacterial communities in Antarctic mosses affected by a fairy ring disease[J]. Extremophiles, 25(5-6): 471-481.

[40] Bignell E. Aspergillus: Molecular Biology and Genomics. By Masayuki Machida and Katsuya Gomi[M]. Wiley Online Library, 2010: 336-337.

[41] Gramss G, Voigt K D, Kirsche B. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons with three to seven aromatic rings by higher fungi in sterile and unsterile soils[J]. Biodegradation, 1999, 10(1): 51-62.

[42] 王叙贤, 顾燕玲, 倪雪姣, 等. 天山乌源1号冰川表面冰尘及底部沉积层真菌群落结构比较及其系统发育分析[J]. 冰川冻土, 2017, 39(4): 781-791. [Wang Xuxian, Gu Yanlin, Ni Xuejiao, et al. Composition and phylogeny of fungal community in supraglacial cryoconite and subglacial sediments of the Glacier No.1 at headwaters of the Urumqi River in Tianshan Mountains[J]. Journal of Glaciology and Geocryology, 2017, 39(4): 781-791.]

[43] Rathore M, Sinha R K, Venkatachalam S, et al. Microbial diversity and associated metabolic potential in the supraglacial habitat of a fast-retreating glacier: a case study of Patsio glacier, North-western Himalaya[J]. Environmental Microbiology Reports, 2022, 14(3): 443-452.

[44] Zajc J, Gostinčar C, Černoša A, et al. Stress-Tolerant Yeasts: Opportunistic pathogenicity versus biocontrol potential[J]. Genes (Basel), 2019, 10(1): 42.

[45] Margesin R, Gander S, Zacke G, et al. Hydrocarbon degradation and enzyme activities of cold-adapted bacteria and yeasts[J]. Extremophiles, 2003, 7(6): 451-458.

[46] Simon C, Wiezer A, Strittmatter Axel W, et al. Phylogenetic diversity and metabolic potential revealed in a glacier ice metagenome[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(23): 7519-7526.

[47] 刘庆, 杨蕾蕾, 周宇光, 等. 冰川细菌冷杆菌属的多样性研究进展[J]. 微生物学报, 2021, 61(4): 807-815. [Liu Qing, Yang Leilei, Zhou Yuguang, et al. Research progress on the diversity of glacial bacteria Cryobacterium[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2021, 61(4): 807-815.]

[48] Lutz S, Anesio A M, Edwards A, et al. Linking microbial diversity and functionality of arctic glacial surface habitats[J]. Environmental Microbiology, 2017, 19(2): 551-565.

[49] 姜远丽, 郑晓吉, 史学伟, 等. 天山冻土中嗜冷酵母菌生物多样

性[J]. 食品与生物技术学报, 2012, 31(12): 1289–1294. [Jiang Yuanli, Zheng Xiaoji, Shi Xuewei, et al. Diversity of psychrotrophic yeast from permafrost soil at the terminus of a glacier in the Tianshan Mountains[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2012, 31(12): 1289–1294.]

[50] Christner B C, Kvitko B H, Reeve J N. Molecular identification of bacteria and eukarya inhabiting an Antarctic cryoconite hole[J]. Extremophiles, 2003, 7(3): 177–183.

[51] Barahona S, Yuivar Y, Socias G, et al. Identification and characterization of yeasts isolated from sedimentary rocks of Union Glacier at the Antarctica[J]. Extremophiles, 2016, 20(4): 479–491.

[52] Hassan N, Rafiq M, Hayat M, et al. Psychrophilic and psychrotrophic fungi: A comprehensive review[J]. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology, 2016, 15(2): 147–172.

Analysis of the microbial diversity of the surface snow from Glacier No. 1 at the headwaters of Urumqi River, Tianshan Mountains

ZHANG Lijuan[1], DU Han[1], YUN Fengze[1], MA Yinghui[2],
ZHANG Xinqiang[1], Awaguli TUERSUN[1], MA Zhenghai [1]

(1. Xinjiang Key Laboratory of Biological Resources and Genetic Engineering, College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046, Xinjiang, China; 2. Tianshan Glaciological Station, Chinese Academy of Sciences, Xinjiang, Urumqi 830035, Xinjiang, China)

Abstract: To examine the characteristics of microbial communities in the surface snow samples from the Glacier No. 1 at the headwaters of Urumqi River, Tianshan Mountains (henceforth referred to as “Urumqi Glacier No. 1”) and their relationship with climate and environment, surface snow samples were collected at an altitude of 3549 m in the spring (April, TSX1), and 3770 m (TSX2) and 3800 m (TSX3) in the summer (June) in the region in 2021. The V3–V4 region of 16S rDNA of bacteria, the V4–V5 region of 16S rDNA of archaea, and the ITS2 region of fungi were amplified by polymerase chain reaction (PCR). The products were then subjected to high-throughput sequencing, after which the microbial diversity was analyzed. The results showed that the microbial diversity of the surface snow samples from the Urumqi Glacier No. 1 differed in spring and summer, with the bacterial diversity being higher in spring and lower in summer, while the fungal diversity showed the opposite pattern. Proteobacteria (58.13%–89.10%) and Bacteroidetes (4.24%–40.74%) were the dominant bacteria at the phylum level, while *Flavobacterium* (2.32%–33.64%) and *Polaromonas* (0.01%–24.72%) were the dominant bacteria at the genus level. Thaumarchaeota (38.10%–97.55%) was the dominant archaea in the three samples, followed by Nanoarchaeaeota (0%–61.90%) and Euryarchaeota (0%–2.82%). Ascomycota (7.06%–88.43%) and Monoblepharidomycota (36.21%–40.78%) were the dominant fungi at the phylum level, and *Aspergillus* (0.16%–81.04%) and *Rhodotorula* (0.02%–8.05%) were the dominant fungi at the genus level. Network interaction analysis showed that the microbial network interaction was dominated by the positive correlation connection (97.3%), and the negative correlation connection accounted for 2.7%, and the interactive relationship tended to be cooperative. In summary, the surface snow microbiota of the Urumqi Glacier No.1 was highly diverse, and the seasonal variation in the microbial community reflects the response of microorganisms to atmospheric circulation in different seasons.

Keywords: Urumqi Glacier No.1; Tianshan; surface snow; microbial diversity; network interaction analysis